

骨折断端初次血肿成骨能力的研究进展

季钲洋, 安小春*

滨州医学院烟台附属医院, 山东 烟台

收稿日期: 2021年10月22日; 录用日期: 2021年11月11日; 发布日期: 2021年11月24日

摘要

骨折延迟愈合或骨不连仍是现在骨折愈合的一大问题, 骨折发生时可在短时间内形成初次血肿, 目前研究认为骨折初次血肿包含成骨潜力、介导相关免疫细胞生成, 并且形成促进骨折愈合的一些诱导分子。国内学者较多对骨折初次血肿进行临床应用, 而国外学者则多对其进行成分及机制研究, 认为骨折初次血肿是骨折愈合的启动因素, 它包含成骨潜力、介导相关免疫细胞生成, 并且形成促进骨折愈合的一些诱导分子。本文综述了骨折部位初次血肿的临床应用及促进骨折愈合的相关成分及机制。

关键词

骨折, 血肿, 断端, 成骨能力

Research Progress on Osteogenesis Ability of Primary Hematoma at Fracture End

Zhengyang Ji, Xiaochun An*

Yantai Affiliated Hospital of Binzhou Medical College, Yantai Shandong

Received: Oct. 22nd, 2021; accepted: Nov. 11th, 2021; published: Nov. 24th, 2021

Abstract

Delayed fracture union or nonunion is still a major problem in fracture union. Primary hematoma can be formed in a short time when fracture occurs. Current studies suggest that primary fracture hematoma contains osteogenic potential, mediates related immune cell generation, and forms some inducing molecules that promote fracture union. Domestic scholars mostly carried out clinical application of primary fracture hematoma, while foreign scholars mostly studied its components and mechanism, believing that primary fracture hematoma is the initiating factor of fracture healing, which contains osteogenesis potential, mediates the generation of relevant immune cells, and forms some inducing molecules that promote fracture healing. This article reviews the clinical

*通讯作者。

application of primary hematoma at fracture site and the related components and mechanisms of promoting fracture healing.

Keywords

Fracture, The Hematoma. End, Osteogenesis Ability

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

随着我国交通行业的不断发展,发生骨折的情况也逐渐增多,其中约达 10%的骨折患者出现延迟愈合或骨不连[1],这给我们的医疗系统带来了巨大影响,不仅对患者经济造成负担,也对患者的健康产生影响。当骨折发生时,骨、骨膜及周围软组织的正常结构和血管系统被破坏,人体被组织成离散的功能解剖室[2]。之后骨折断端很快形成初次血肿,本文就骨折部位初次血肿的临床应用及促进骨折愈合的相关成分及机制进行综述。

2. 骨折部位初次血肿的应用及临床研究

2.1. 骨折初次血肿的单独应用

早在上世纪就有国外学者通过实验将大鼠股骨干骨折后 2 天和 4 天的骨折部位初次血肿分别移植到骨膜下和肌肉内,发现骨折血肿具有固有的成骨潜能[3]。Ozaki A 等人[4]进一步研究了骨折血肿与骨膜在骨折愈合早期的相互作用,结果显示去除骨膜的对照组成骨能力明显减弱。早期实验证明骨折初次血肿有成骨能力,而另有学者发现将新西兰兔骨折后 4 天内的血肿清除会导致骨折处延迟愈合或骨不连[5]。以上实验仅营造出闭合性骨折条件, Schell H [6]等则建立绵羊开放性胫骨骨折模型,在 4 或 7 天后被清除骨折处血肿,与未受干扰的对照组相比,愈合前两周形成的骨明显减少。国内学者郭运通[7]将患者自体静脉血注入骨折处,形成人工血肿,也有一定效果可治疗骨延迟愈合,但人工血肿与原始血肿相比作用机制不明确。另有学者[8]术中手法复位失败的骨折断端处初次血肿进行回植应用,复查 X 线显示骨痂生成时间早且量大。李贵涛[9]将兔骨折初次血肿冰冻 3 天后,回植到骨缺损处,显示冷藏后的血肿仍有很好的成骨能力。郭志坚[10]将骨折断端新鲜血肿保留,也得出有较好的促进骨折愈合能力。褚鹏飞[11]同样将血肿回收,待术中复位成骨后,按直线 180°植入骨折断端,术后随访血肿回植组未有骨折延迟愈合的发生。以上学者对照指标较简单,林梁[12]等则将血肿回植后,术后定期复查骨钙素(OC)、I 型前胶原羧基端肽(PICP)、血清骨碱性磷酸酶(NBAP),结果显示回植组内上述指标均增高,并有统计学差异。何汉晖[13]同样对血肿保留组术后复查 X 线及相关指标,结果也显示骨折端血肿回植可以显著增强骨折断端成骨能力,且促进骨愈合。张平超[14]等则比较血肿有无回植两组的骨折愈合时间和术后不同时间节点的骨折愈合率,同样显示在四肢骨折术中骨折端血肿回植可促进患者术后早期成骨细胞的增殖和分化。

以上研究显示不论骨折是闭合还是开放、使用机化还是新鲜血肿、不管是在动物实验或是临床应用中,骨折断端处形成的初次血肿都有一定的成骨能力。

2.2. 骨折初次血肿复合的联合应用

上述研究仅对单独的骨折初次血肿进行研究, 朱阳星[15]则在家兔模型中, 将骨折处初次血肿联合富血小板纤维蛋白进行研究, 并对标本进行相应染色, 得出将骨折初次血肿与富血小板纤维蛋白结合使用, 可以明显促进骨折的愈合的结论。王春生[16]等人将骨折断端初次血肿放入 β -TCP 内, 分别植入兔肌肉及骨折断端处, 结果显示血肿结合 β -TCP 也有良好的成骨能力, 并且优于自体髂骨。林晓光[17]则用凉血化瘀法结合初次血肿回植, 对踝部骨折术后踝关节肿胀及功能恢复的差异进行研究, 结果显示可明显缓解踝部术后疼痛、肿胀。

上述研究通过使用不同的复合物联合初次血肿, 都一定程度上证实了初次血肿在联合使用下也有一定的成骨能力, 可以加快骨折断端愈合, 并且减少骨折术后的疼痛与肿胀。

3. 骨折部位初次血肿的细胞成分相关研究

3.1. 骨折初次血肿有成骨潜力

上述大量研究表明骨折初次血肿可以促进骨折愈合, 但相应成分没有进一步研究, 国外有学者[18]对人骨折初次血肿进行细胞培养, 应用流式细胞术显示其对间充质干细胞相关标记物 CD29、CD44、CD105 和 CD166 呈阳性。并且与骨髓来源的间充质干细胞(MSCs)类似, MSCs 被认为是治疗马和人骨折愈合障碍的可能合适的候选者, 在存在特异性诱导因子的情况下, 可在体外分化为成骨细胞、成软骨细胞[19]。这表明骨折初次血肿内含有成骨潜力细胞。学者 Hasegawa T [20]进一步对人下颌骨折血肿细胞研究, 发现人下颌骨折血肿细胞的成骨潜能与 BMSCs (骨髓基质细胞)相当, 而成软骨潜能较弱。

3.2. 骨折初次血肿内的免疫细胞及炎症介质

Schmidt-Bleek K [21]对比绵羊肌肉血肿与骨折血肿, 结果显示术后 1 小时, 初次骨折血肿内粒细胞百分比比较低, 而辅助性 T 细胞与细胞毒性 T 细胞的比率高于肌肉血肿。后有实验研究表明, 严重创伤会提前激活中性粒细胞, 并诱导中性粒细胞向如骨折血肿流入增加, 并损害骨愈合[22]。由此骨折初次血肿中较低的粒细胞可能会减少骨不连风险。Horst K [23]的研究表明早期时间内骨折初次血肿中 IL-6、IL-8、IL-10、HMGB1 的值高于全身炎症反应浓度, 并且首次描述了骨折初次血肿中抗炎 HSP70 的增加。猜测随着时间的推移, 骨折血肿的促炎环境向抗炎环境转变, 这可能会对愈合造成影响。该团队又进一步研究了单发伤与多发伤之间骨折初次血肿内的免疫差异, 结果显示随着时间的推移, 两组血肿中的促炎性 IL-6 均显著降低, 然而, 单发伤组的 IL-8 浓度明显高于多发伤组[24], 推测复合创伤可能会引起局部或全身细胞因子和趋化因子水平的紊乱, 这些细胞因子和趋化因子水平与早期骨折愈合密切相关, 可能会影响骨折不愈合等不良后果。Hoff P [25]对人股骨干骨折血肿细胞进行研究, 发现骨折初次血肿中包含多种骨髓细胞及免疫细胞, 其中效应 T 淋巴细胞可通过调节机体 IL-10 与 IL-4 的抑制破骨细胞的形成, T 细胞还可产生干扰素- γ 诱导 IL-4 形成成骨细胞。Hoff P [26]通过研究免疫受限患者的骨折初次血肿, 发现在免疫受限患者的骨折初次血肿包括较多的单核细胞、造血干细胞以及 NKT 细胞, 而调节性 T 细胞较少, 这可能是免疫受限患者骨折愈合时间延长的原因之一。

3.3. 骨折初次血肿内的促进因子

Kolar P [27]对人骨折后 6-72 小时的初次血肿进行分析, 发现其中的 VEGF 因子和 IL6 较正常细胞上调。前者能促骨折处新生血管的生长, 而血管的生成是骨折愈合中极其关键的部分[28]。Pfeiffenberger M [29]等人通过对马的骨折初次血肿进行体外研究, 发现 VEGF 因子在缺氧条件下比常氧条件下产生的程度更高, 但没有进一步对相关因素及机制进行研究。转化生长因子- β 1 (TGF- β 1)是一种调节蛋白, 参与骨

折愈合, 循环内 TGF- β 1 水平是骨折延迟愈合和骨不连的预测指标[30], Sarahrudi [31]等证实骨折血肿中转化生长因子- β 1 (Tgf β 1)的浓度明显高于患者外周血[31]。Ode A 等[32]对大鼠的初次骨折血肿进行了全基因组基因表达分析, 通过 q-RT-PCR 验证了其内有 MMP-9 和 MMP-13 的表达, MMP-9 和 MMP-13 是机械力敏感的基质金属蛋白酶家族成员, 在细胞迁移和血管生成中起关键作用。并且该团队进一步发现骨折初次血肿中的 MMP-9 和 MMP-13 在骨折断端稳定程度差异下, 有着不同的表达, 为进一步研究骨折愈合的分子机制提供了新的思路[33]。

4. 小结与展望

本文综述了国内外一些学者对骨折部位初次血肿成骨能力的相关研究, 阐释了它含有的主要成分及相关的作用机制。笔者认为骨折初次血肿是骨折愈合的启动因素, 它包含成骨潜力、介导相关免疫细胞生成, 并且形成促进骨折愈合的一些诱导分子。但目前对骨折初次血肿的研究形式仍比较单一, 有许多机制尚不清楚; 此外, 骨折初次血肿内相关成分之间的联动机制仍存在很大的未知, 需进一步探索。

参考文献

- [1] Baker, C.E., et al. (2018) Bone Fracture Acute Phase Response—A Unifying Theory of Fracture Repair: Clinical and Scientific Implications. *Clinical Reviews in Bone and Mineral Metabolism*, **16**, 142-158. <https://doi.org/10.1007/s12018-018-9256-x>
- [2] Loi, F., et al. (2016) Inflammation, Fracture and Bone Repair. *Bone*, **86**, 119-130. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2016.02.020>
- [3] Mizuno, K., et al. (1990) The Osteogenetic Potential of Fracture Haematoma. Subperiosteal and Intramuscular Transplantation of the Haematoma. *The Journal of Bone and Joint Surgery. British Volume*, **72**, 822-829. <https://doi.org/10.1302/0301-620X.72B5.2211764>
- [4] Ozaki, A., et al. (2000) Role of Fracture Hematoma and Periosteum during Fracture Healing in Rats: Interaction of Fracture Hematoma and the Periosteum in the Initial Step of the Healing Process. *Journal of Orthopaedic Science*, **5**, 64-70. <https://doi.org/10.1007/s007760050010>
- [5] Park, S.H., Silva, M., Bahk, W.-J., McKellop, H. and Lieberman, J.R. (2002) Effect of Repeated Irrigation and Debridement on Fracture Healing in an Animal Model. *Journal of Orthopaedic Research*, **20**, 1197-1204. [https://doi.org/10.1016/S0736-0266\(02\)00072-4](https://doi.org/10.1016/S0736-0266(02)00072-4)
- [6] Schell, H., et al. (2017) The Haematoma and Its Role in Bone Healing. *Journal of Experimental Orthopaedics*, **4**, 5. <https://doi.org/10.1186/s40634-017-0079-3>
- [7] 郭运通, 冯金顺, 李淑芬. 人工血肿疗法治疗骨折延迟愈合临床体会[J]. 中医正骨, 2000(10): 43.
- [8] 郭洪旺, 等. 股骨干骨折血肿手术再利用[J]. 中国骨伤, 2001(10): 60.
- [9] 李贵涛, 李华仁, 徐洪章. 原始骨血肿的骨再生潜能的实验研究[J]. 骨与关节损伤杂志, 2004, 19(5): 323-324.
- [10] 郭志坚. 应用原始骨血肿对闭合性长骨骨折手术治疗的体会[J]. 实用骨科杂志, 2005, 11(4): 356-357.
- [11] 褚鹏飞, 马国栋, 孙英伦. 骨折血肿回收再利用 106 例临床分析[J]. 中国医药指南, 2013, 11(6): 31-32.
- [12] 林梁, 等. 骨折愈合过程中原始骨折血肿的潜在作用[J]. 中国组织工程研究, 2015, 19(46): 7386-7390.
- [13] 何汉晖, 等. 骨折部位血肿回植对骨折愈合的促进作用[J]. 深圳中西医结合杂志, 2017, 27(6): 119-120.
- [14] 张平超, 茅宇仑. 四肢骨折术中骨折端血肿回植对患者骨折愈合及骨生化指标的影响[J]. 重庆医学, 2021, 50(15): 4.
- [15] 朱阳星. 骨折血肿联合富血小板纤维蛋白促进兔骨折愈合的实验研究[D]: [硕士学位论文]. 湛江: 广东医学院, 2016.
- [16] 王春生, 等. 复合骨折血肿人工骨成骨能力的实验研究[J]. 中国骨与关节损伤杂志, 2016, 31(7): 718-721.
- [17] 林晓光, 等. 凉血化瘀法结合血肿回植对踝部骨折术后关节功能恢复的临床观察[J]. 广州中医药大学学报, 2020, 37(2): 250-256.
- [18] Oe, K., Miwa, M., Sakai, Y., Lee, S.Y., Kuroda, R. and Kurosaka, M. (2007) An *in Vitro* Study Demonstrating That Haematomas Found at the Site of Human Fractures Contain Progenitor Cells with Multilineage Capacity. *The Journal*

- of Bone and Joint Surgery. British Volume*, **89**, 133-138. <https://doi.org/10.1302/0301-620X.89B1.18286>
- [19] Govoni, K.E. (2015) HORSE SPECIES SYMPOSIUM: Use of Mesenchymal Stem Cells in Fracture Repair in Horses. *Journal of Animal Science*, **93**, 871-878. <https://doi.org/10.2527/jas.2014-8516>
- [20] Hasegawa, T., *et al.* (2012) Mandibular Hematoma Cells as a Potential Reservoir for Osteoprogenitor Cells in Fractures. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, **70**, 599-607. <https://doi.org/10.1016/j.joms.2011.03.043>
- [21] Schmidt-Bleek, K., *et al.* (2009) Cellular Composition of the Initial Fracture Hematoma Compared to a Muscle Hematoma: A Study in Sheep. *Journal of Orthopaedic Research*, **27**, 1147-1151. <https://doi.org/10.1002/jor.20901>
- [22] Bastian, O.W., *et al.* (2018) Serum from the Human Fracture Hematoma Contains a Potent Inducer of Neutrophil Chemotaxis. *Inflammation*, **41**, 1084-1092. <https://doi.org/10.1007/s10753-018-0760-4>
- [23] Horst, K., *et al.* (2015) Local Inflammation in Fracture Hematoma: Results from a Combined Trauma Model in Pigs. *Mediators of Inflammation*, **2015**, Article ID: 126060. <https://doi.org/10.1155/2015/126060>
- [24] Horst, K., *et al.* (2019) Trauma Severity and Its Impact on Local Inflammation in Extremity Injury-Insights from a Combined Trauma Model in Pigs. *Frontiers in Immunology*, **10**, 3028. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.03028>
- [25] Hoff, P., *et al.* (2016) Immunological Characterization of the Early Human Fracture Hematoma. *Immunologic Research*, **64**, 1195-1206. <https://doi.org/10.1007/s12026-016-8868-9>
- [26] Hoff, P., *et al.* (2017) A Pronounced Inflammatory Activity Characterizes the Early Fracture Healing Phase in Immunologically Restricted Patients. *International Journal of Molecular Sciences*, **18**, 583. <https://doi.org/10.3390/ijms18030583>
- [27] Kolar, P., *et al.* (2011) Human Early Fracture Hematoma Is Characterized by Inflammation and Hypoxia. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, **469**, 3118-3126. <https://doi.org/10.1007/s11999-011-1865-3>
- [28] Yuasa, M., *et al.* (2014) The Temporal and Spatial Development of Vascularity in a Healing Displaced Fracture. *Bone*, **67**, 208-221. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2014.07.002>
- [29] Pfeiffenberger, M., *et al.* (2019) Hypoxia and Mesenchymal Stromal Cells as Key Drivers of Initial Fracture Healing in an Equine *in Vitro* Fracture Hematoma Model. *PLoS ONE*, **14**, e0214276. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0214276>
- [30] Ma, Y., Zhou, Y.H., Wu, F.J., Ji, W.J., Zhang, J. and Wang, X. (2019) The Bidirectional Interactions between Inflammation and Coagulation in Fracture Hematoma. *Tissue Engineering Part B: Reviews*, **25**, 46-54. <https://doi.org/10.1089/ten.teb.2018.0157>
- [31] Sarahrudi, K., *et al.* (2011) Elevated Transforming Growth Factor-Beta 1 (TGF- β 1) Levels in Human Fracture Healing. *Injury*, **42**, 833-837. <https://doi.org/10.1016/j.injury.2011.03.055>
- [32] Ode, A., *et al.* (2014) Interaction of Age and Mechanical Stability on Bone Defect Healing: An Early Transcriptional Analysis of Fracture Hematoma in Rat. *PLoS ONE*, **9**, e106462. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0106462>
- [33] Wang, C., Qi, B.C., Zhang, C.F. and Cheng, J.P. (2017) Identification of Key Genes Influenced by Fixation Stability in Early Fracture Hematoma and Elucidation of Their Roles in Fracture Healing. *Experimental and Therapeutic Medicine*, **14**, 4633-4638. <https://doi.org/10.3892/etm.2017.5192>